

Клітини МНН-ES1 | 300136

Загальна інформація

Description

Клітинну лінію МНН-ES1 отримано від пацієнта з саркомою Юінга, високоагресивним раком кісток і м'яких тканин, що вражає переважно дітей і молодих людей. Ця клітинна лінія є цінною моделлю для вивчення молекулярних механізмів, що лежать в основі саркоми Юінга, зокрема ролі гена злиття EWSR1-FLI1, який є характерним для цього типу раку. Ген злиття виникає внаслідок транслокації між хромосомами 11 і 22, що призводить до утворення онкогенного фактора транскрипції, який стимулює пухлиноутворення. МНН-ES1, як і інші клітинні лінії саркоми Юінга, використовується для дослідження шляхів, на які впливає EWSR1-FLI1, включаючи зміни в проліферації, диференціації та апоптозі клітин.

Дослідники використовують клітинну лінію МНН-ES1 для оцінки ефективності різних терапевтичних засобів, спрямованих на шляхи, критичні для виживання та проліферації саркоми Юінга. Наприклад, вона допомагає тестувати низькомолекулярні інгібітори, РНК-інтерференцію та методи редагування генів CRISPR-Cas9, спрямовані на руйнування гена злиття EWSR1-FLI1 або його наступних ефекторів. Крім того, МНН-ES1 слугує моделлю для вивчення механізмів резистентності до традиційної хіміотерапії та виявлення нових біомаркерів для ранньої діагностики та моніторингу відповіді на лікування у пацієнтів із саркомою Юінга.

Organism Людина

Tissue Кость

Disease Саркома Юінга

Metastatic site Асцит

Synonyms МНН-ES-1, МННЕС1

Характеристики

Age 12 років

Gender Чоловік

Ethnicity Турецька

Morphology Маленькі круглі клітини

Growth properties Прихильники, кластери

Нормативні дані

Клітини MHH-ES1 | 300136

Citation	MHH-ES1 (номер за каталогом Cytion 300136)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1411

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1 до 2×10^4 клітин/см ²
Fluid renewal	Кожні 3-5 днів
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см ² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини MHN-ES1 | 300136

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини МНН-ES1 | 300136

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

A*: '01:01:01, '68:01:01
B*: '40:01:02, '49:01:01
C*: '01:02:01, '07:01:01
DRB1*: '07:01:01, '11:01:01
DQA1*: '02:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:03:02G
DPB1*: '10:01:01, '13:01:01
E: '01:01:01, '01:03:01